







BRANCHED GLUCOSE SOLUBLE POLYMERS AND METHOD FOR THE PRODUCTION THEREOF

Patent number: WO0066633
Publication date: 2000-11-09
Inventor: CABOCHE JEAN-JACQUES [FR]; LOOTEN PHILIPPE [FR]; PETITJEAN CAROLE [FR]; FLECHE GUY [FR]; COMINI SERGE [FR]; BACKER DANIEL [FR]
Applicant: ROQUETTE FRERES [FR]; CABOCHE JEAN JACQUES [FR]; LOOTEN PHILIPPE [FR]; PETITJEAN CAROLE [FR]; FLECHE GUY [FR]; COMINI SERGE [FR]; BACKER DANIEL [FR]
Classification:
 - international: C08B30/12; C12P19/16
 - european: C08B30/18; C08B37/00; C12P19/16
Application number: WO2000FR01109 20000426
Priority number(s): FR19990005523 19990430

Also published as:

 EP1177216 (A1)
 FR2792941 (A1)
 CA2371185 (A1)
 EP1177216 (B1)

Cited documents:

 FR2499588
 XP002127630

Abstract of WO0066633

The invention relates to glucose soluble polymers which do not substantially contain any beta glucosidic bonds, characterized in that they comprise 2.5 -10 % alpha -1,6 glucosidic bonds, have a very low or zero tendency to retrograde in an aqueous solution determined according to a test A, possess an MP which is determined according to a test C having a median value of the distribution profile of the molecular masses ranging from 104 and 105 Daltons and have a reducing sugar content that is at most 9 %.

Data supplied from the *esp@cenet* database - Worldwide

BEST AVAILABLE COPY

THIS PAGE BLANK (USPTO)



DEMANDE INTERNATIONALE PUBLIÉE EN VERTU DU TRAITE DE COOPERATION EN MATIERE DE BREVETS (PCT)

(51) Classification internationale des brevets ⁷ : C08B 30/12, C12P 19/16	A1	(11) Numéro de publication internationale: WO 00/66633 (43) Date de publication internationale: 9 novembre 2000 (09.11.00)
<p>(21) Numéro de la demande internationale: PCT/FR00/01109</p> <p>(22) Date de dépôt international: 26 avril 2000 (26.04.00)</p> <p>(30) Données relatives à la priorité: 99/05523 30 avril 1999 (30.04.99) FR</p> <p>(71) Déposant (pour tous les Etats désignés sauf US): ROQUETTE FRERES [FR/FR]; F-62136 Lestrem (FR).</p> <p>(72) Inventeurs; et (75) Inventeurs/Déposants (US seulement): CABOCHE, Jean-Jacques [FR/FR]; Rue du Pré, F-62131 Drouvin Le Marais (FR). LOOTEN, Philippe [FR/FR]; 66, allée de l'Artois, F-59130 Lambersat (FR). PETITJEAN, Carole [FR/FR]; 4, rue Lyderic, F-59520 Marquette Lez Lille (FR). FLECHE, Guy [FR/FR]; 15, rue Gambetta, F-59190 Hazebrouck (FR). COMINI, Serge [FR/FR]; 42, rue du Beaupré, F-59253 La Gorgue (FR). BACKER, Daniel [FR/FR]; 330, rue Berthelotte, F-62350 Saint Venant (FR).</p> <p>(74) Mandataire: NARGOLWALLA, Cyra; Cabinet Plasseraud, 84, rue d'Amsterdam, F-75440 Paris Cedex 09 (FR).</p>	<p>(81) Etats désignés: AE, AG, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BY, CA, CH, CN, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EE, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, NO, NZ, PL, PT, RO, RU, SD, SE, SG, SI, SK, SL, TJ, TM, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VN, YU, ZA, ZW, brevet ARIPO (GH, GM, KE, LS, MW, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZW), brevet eurasien (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), brevet européen (AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE), brevet OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).</p> <p>Publiée Avec rapport de recherche internationale.</p>	

(54) Title: BRANCHED GLUCOSE SOLUBLE POLYMERS AND METHOD FOR THE PRODUCTION THEREOF

(54) Titre: POLYMERES SOLUBLES DE GLUCOSE BRANCHES ET LEUR PROCEDE D'OBTENTION

(57) Abstract

The invention relates to glucose soluble polymers which do not substantially contain any β glucosidic bonds, characterized in that they comprise 2.5 - 10 % α -1,6 glucosidic bonds, have a very low or zero tendency to retrograde in an aqueous solution determined according to a test A, possess an MP which is determined according to a test C having a median value of the distribution profile of the molecular masses ranging from 104 and 105 Daltons and have a reducing sugar content that is at most 9 %.

(57) Abrégé

L'invention a pour objet des polymères solubles de glucose branchés ne contenant substantiellement pas de liaisons β glucosidiques, caractérisés par le fait qu'ils présentent entre 2,5 et 10 % de liaisons glucosidiques α -1,6, une tendance très faible ou nulle à la rétrogradation en solution aqueuse, déterminée selon un test A, un Mp déterminé selon un test C à une valeur centrée du profil de distribution des masses moléculaires compris entre 10^4 et 10^5 daltons et une teneur en sucres réducteurs au plus égale à 9%.

UNIQUEMENT A TITRE D'INFORMATION

Codes utilisés pour identifier les Etats parties au PCT, sur les pages de couverture des brochures publiant des demandes internationales en vertu du PCT.

AL	Albanie	ES	Espagne	LS	Lesotho	SI	Slovénie
AM	Arménie	FI	Finlande	LT	Lituanie	SK	Slovaquie
AT	Autriche	FR	France	LU	Luxembourg	SN	Sénégal
AU	Australie	GA	Gabon	LV	Lettonie	SZ	Swaziland
AZ	Azerbaïdjan	GB	Royaume-Uni	MC	Monaco	TD	Tchad
BA	Bosnie-Herzégovine	GE	Géorgie	MD	République de Moldova	TG	Togo
BB	Barbade	GH	Ghana	MG	Madagascar	TJ	Tadjikistan
BE	Belgique	GN	Guinée	MK	Ex-République yougoslave de Macédoine	TM	Turkménistan
BF	Burkina Faso	GR	Grèce	ML	Mali	TR	Turquie
BG	Bulgarie	HU	Hongrie	MN	Mongolie	TT	Trinité-et-Tobago
BJ	Bénin	IE	Irlande	MR	Mauritanie	UA	Ukraine
BR	Brésil	IL	Israël	MW	Malawi	UG	Ouganda
BY	Bélarus	IS	Islande	MX	Mexique	US	Etats-Unis d'Amérique
CA	Canada	IT	Italie	NE	Niger	UZ	Ouzbékistan
CF	République centrafricaine	JP	Japon	NL	Pays-Bas	VN	Viet Nam
CG	Congo	KE	Kenya	NO	Norvège	YU	Yougoslavie
CH	Suisse	KG	Kirghizistan	NZ	Nouvelle-Zélande	ZW	Zimbabwe
CI	Côte d'Ivoire	KP	République populaire démocratique de Corée	PL	Pologne		
CM	Cameroun	KR	République de Corée	PT	Portugal		
CN	Chine	KZ	Kazakstan	RO	Roumanie		
CU	Cuba	LC	Sainte-Lucie	RU	Fédération de Russie		
CZ	République tchèque	LJ	Liechtenstein	SD	Soudan		
DE	Allemagne	LK	Sri Lanka	SE	Suède		
DK	Danemark	LR	Libéria	SG	Singapour		
EE	Estonie						

**POLYMERES SOLUBLES DE GLUCOSE BRANCHES
ET LEUR PROCEDE D'OBTENTION**

L'invention a pour objet des polymères solubles de
5 glucose branchés ne contenant substantiellement pas de
liaisons β glucosidiques, qui présentent des teneurs
particulières en liaisons glucosidiques α -1,6, une
excellente stabilité en solution exprimée par leur faible
tendance à la rétrogradation et une remarquable
10 distribution des poids moléculaires dans un intervalle
compris entre 10^4 et 10^8 daltons.

Ces polymères solubles de glucose branchés présentent
par ailleurs une faible teneur en sucres réducteurs et une
faible viscosité.

15 L'invention concerne également un procédé de
fabrication desdits polymères solubles de glucose branchés.
Elle vise encore des compositions comprenant de tels
polymères solubles de glucose branchés qu'il est possible
d'utiliser dans de nombreuses applications industrielles et
20 notamment dans les industries alimentaires.

Au sens de l'invention, les polymères solubles de
glucose branchés ne contenant substantiellement pas de
liaisons β glucosidiques sont des polymères de glucose lié
en α -1,4 et présentant de nombreux points de ramification
25 (encore appelés points de branchement) en α -1,6, et moins
de 5 % de branchement en β , c'est-à-dire en β -1,2, β -1,3,
 β -1,4 ou β -1,6.

Les polymères du glucose classiquement accessibles
industriellement sont notamment issus des amidons naturels
30 ou hybrides et de leurs dérivés.

Généralement, l'amidon est constitué de deux
polymères, l'amylose et l'amylopectine. L'amylose est la

fraction renfermant des homopolymères linéaires de glucose liés en α -1,4 et quelques points de branchement en α -1,6. L'amylopectine est quant à elle la fraction ramifiée, constituée de chaînes linéaires de glucose en α -1,4 reliées
5 à d'autres chaînes linéaires de glucose en α -1,4 par des points de ramification en α -1,6.

L'association de ces deux homopolymères, empaquetés sous la forme de granules d'amidon très bien structurés, constitue la réserve de source carbonée de la plante.

10 L'amidon produit dans chaque plante est constitué d'un pourcentage variable en chacun de ses constituants amylose et amylopectine, voire même d'une distribution particulière des poids moléculaires de chacun desdits homopolymères de glucose. Ce qui explique la raison pour
15 laquelle les divers amidons et leurs dérivés sont habituellement classés en fonction de leur origine botanique.

Les propriétés fonctionnelles des amidons et de leurs dérivés sont en outre directement fonction de leur contenu
20 en amylose et amylopectine. Ainsi, lorsque l'on chauffe une suspension d'amidon au delà de la température de gélatinisation, le granule d'amidon gonfle, et l'amylose se solubilise préférentiellement. Cependant, lors du refroidissement de la suspension, les homopolymères de
25 glucose rétrogradent, rapidement pour l'amylose (quelques heures), et de manière plus lente pour l'amylopectine (quelques jours).

Or, les spécialistes du domaine de l'utilisation des amidons et des dérivés de l'amidon en industrie alimentaire
30 s'accordent à dire que ce phénomène de rétrogradation affecte la texture des aliments, et en diminue la durée de vie.

Il est connu de rendre plus acceptables ces produits, en les préparant à partir de produits amyliques riches en amylopectine, et donc par exemple à partir des variétés waxy. Cependant, la stabilité des gels et liants obtenus à partir desdits produits amyliques riches en amylopectine n'est pas suffisante pour les besoins des industries alimentaires, où il est parfois nécessaire d'avoir une durée de stockage de plusieurs mois.

Une première solution consiste à stabiliser les homopolymères de glucose, et ce grâce à des agents chimiques. Cette opération est la plupart du temps effectuée par la mise en oeuvre de réactions d'estérification ou d'éthérification. Il peut s'agir notamment de réactions d'acétylation ou d'hydroxypropylation. En outre, pour obtenir les propriétés de texture et de viscosité souhaitées, ces réactions sont souvent associées à une réaction de réticulation.

Ces modifications confèrent alors des propriétés rhéologiques remarquables aux amidons, les rendant plus résistants aux traitements mécaniques tels le cisaillement, ou aux milieux acides. L'acétylation ou l'hydroxypropylation confèrent en outre une bonne stabilité au stockage après cuisson, notamment à basse température.

Cependant, les produits ainsi obtenus présentent l'inconvénient d'avoir été traités chimiquement, ce qui est souvent mal perçu par les consommateurs.

Une seconde solution consiste à isoler l'amidon à partir de plantes dont certains gènes impliqués dans la biosynthèse de l'amidon ont été altérés, ce qui confère aux amidons ainsi modifiés des propriétés particulières.

Il peut s'agir de variétés mutantes ou hybrides, affectées au niveau des gènes waxy (wx), amylose extender

(ae), dull (du), opaque (o) shrunken (sh), brittle (bt), ou sugary (su).

Le brevet 4.767.849 décrit ainsi l'amidon extrait d'une variété de maïs homozygote pour le génotype
5 waxy/shrunken-1, qui confère aux amidons granulaires ainsi obtenus des propriétés de stabilité à la rétrogradation en cycles de congélation/décongélation (classiquement appelés cycles de gel/dégel) équivalents aux amidons modifiés chimiquement. Cependant, ces variétés obtenues par
10 croisement entre deux variétés de génotype waxy et shrunken ne présentent qu'une teneur en amidon comprise entre 1 et 20 % de la teneur en amidon normalement synthétisée par les variétés dites de type sauvage.

Il peut s'agir également de plantes génétiquement
15 modifiées, obtenues par modification ciblée d'un gène ou d'un ensemble de gènes codant pour des enzymes intervenant dans la biosynthèse de l'amidon. Les stratégies d'extinction ou d'amplification génique dans la plante, des gènes codant par exemple pour les enzymes de débranchement
20 ou de branchement de l'amidon propres à la plante, ou d'origine exogène, tels les gènes de biosynthèse du glycogène des bactéries, ont été abondamment décrites.

Cependant, force est de constater, comme dans le cas des plantes mutantes ou hybrides, que si les amidons ainsi
25 modifiés présentent des propriétés équivalentes aux amidons modifiés chimiquement, les teneurs en amidon des plantes ainsi obtenues sont loin d'être industriellement satisfaisantes.

Une première alternative à ces procédés consiste à
30 utiliser des enzymes de type α -amylase, α -amylase, pullulanase, iso-amylase pour modifier *in vitro* les amidons natifs afin de leur conférer certaines des propriétés des

amidons modifiés chimiquement. Il n'y a donc normalement plus de problèmes liés aux quantités mises en œuvre.

La demande de brevet EP 539.910 décrit ainsi un procédé de préparation de granules d'amidon modifié par un traitement à l' α -amylase, pour obtenir des produits de moindre viscosité. Cependant, ce procédé ne vise qu'à altérer la structure du granule d'amidon, sans en modifier profondément les constituants.

Le brevet EP 574.721 décrit la préparation d'un produit amylicé à haute teneur en amylopectine stable, en n'utilisant pas de traitement chimique proprement dit, mais en effectuant une réaction d'hydrolyse contrôlée à la β -amylase sur un amidon granulaire natif.

Le produit ainsi préparé présente alors une absence de synérèse et de modification de viscosité dans le temps, et est stable au gel/dégel. Cependant, ce procédé nécessite une étape de traitement thermique préalable, à une température comprise entre 65 et 75°C, pour gélatiniser l'amidon avant de réaliser l'hydrolyse enzymatique proprement dite. De plus, il est surtout nécessaire de contrôler le taux d'hydrolyse pour le limiter à une valeur comprise entre 5 et 20 %.

Une autre alternative aux procédés visant à modifier chimiquement les amidons natifs, ou à extraire des amidons natifs possédant des propriétés d'amidons modifiés à partir de plantes mutantes, hybrides ou génétiquement modifiées, consiste à introduire *in vitro* de nouveaux points de branchement dans l'amidon.

Il s'agit alors de conduire un remaniement des chaînes d'amylopectine ou d'amylose, plutôt que de mettre en œuvre des réactions de stabilisation et/ou de réticulation comme indiqué précédemment.

Deux techniques sont habituellement mises en oeuvre. La première utilise des moyens thermiques, la seconde des enzymes purifiées de biosynthèse du glycogène et/ou de l'amidon, telles les enzymes de branchement du glycogène ou de l'amidon, responsables respectivement de la synthèse des points de ramification en α -1,6 du glycogène, ou des points de ramification en α -1,6 de l'amylopectine et des quelques points de branchement de l'amylose.

La demande de brevet WO 95/22562 décrit par exemple des dextrines de type amidon, caractérisées par leur poids moléculaire compris entre $15 \cdot 10^3$ et 10^7 daltons, et un degré de branchement compris entre 2 et 8 %, obtenues par le traitement, en conditions acides (acide orthophosphorique à 0,17 % en poids d'amidon) et à une température comprise entre 110 à 140°C pendant de 1 à 15 h, d'amidon granulaire natif, notamment de la fécule de pomme de terre.

La composition ainsi obtenue est destinée aux sportifs comme apport énergétique après un effort physique. Cependant, ce traitement est long et très lourd à mettre en oeuvre, et il conduit à des polymères de glucose qui renferment, outre une teneur élevée en liaisons α -1,6 (de préférence comprise entre 3 et 7 %), de nouveaux types de liaisons qui n'existent pas normalement dans l'amidon natif. Les analyses par résonance magnétique nucléaire (RMN) révèlent en effet des liaisons de type β -1,4, β -1,6, et des liaisons α autres qu'en α -1,4 et en α -1,6.

De tout ce qui précède, il résulte qu'il y a donc un besoin non satisfait de disposer, d'une part, de polymères de glucose présentant des propriétés remarquables, notamment en terme de stabilité, de solubilité et éventuellement de viscosité et conférant par la même aux

produits qui les contiennent des capacités plus grandes de durées de vie et de digestibilité, et d'autre part, de les obtenir sans utiliser de techniques chimiques ou physiques, ni d'avoir recours à des extractions à partir de plantes
5 mutantes ou génétiquement modifiées.

La société Demanderesse a eu le mérite de concilier tous ces objectifs réputés jusqu'alors difficilement conciliables en imaginant et élaborant, au prix de nombreuses recherches, de nouveaux types de produits à
10 savoir de nouveaux polymères solubles de glucose branchés ne contenant substantiellement pas de liaisons β glucosidiques.

Les polymères solubles de glucose branchés ne contenant substantiellement pas de liaisons β glucosidiques
15 conformes à l'invention sont ainsi caractérisés par le fait qu'ils possèdent entre 2,5 et 10 % de liaisons glucosidiques α -1,6, une tendance très faible ou nulle à la rétrogradation en solution aqueuse, déterminée selon un test A et un M_p déterminé selon un test C à une valeur
20 centrée du profil de distribution des masses moléculaires comprise entre 10^4 et 10^8 daltons.

Les polymères de glucose branchés conformes à l'invention présentent par ailleurs une faible teneur en sucres réducteurs, au plus égale à 9 % et une viscosité
25 déterminée selon un test B, pour 3 g de produit sec, au plus égale à 5.000 cP.

La teneur en liaisons glucosidiques α -1,6 des polymères solubles de glucose branchés conformes à l'invention, déterminée par analyse RMN du proton, est de
30 2,5 à 10 %, exprimée en nombre de liaisons α -1,6 par rapport au nombre total de liaisons glucosidiques α -1,4 et α -1,6 des dits polymères de glucose branchés.

Cette teneur en liaisons glucosidiques α -1,6, confère à tout polymère de glucose conforme à l'invention une structure particulière, en termes de degré de ramification et/ou de longueurs de chaînes ramifiées en regard de
5 l'amidon ou du dérivé d'amidon dont il est issu.

Les polymères solubles de glucose branchés conformes à l'invention présentent également une faible tendance à la rétrogradation en solution aqueuse, déterminée selon un test A. Ce test consiste à établir l'aptitude à la
10 rétrogradation d'un produit donné au cours de cycles répétés de gel/dégel.

La rétrogradation observée du produit, et l'enthalpie de déstructuration du produit qui a pu rétrograder, déterminée par Analyse Calorimétrique Différentielle,
15 renseignent donc sur la stabilité du produit considéré.

Le test A consiste plus précisément à effectuer une préparation aqueuse du produit à tester à 40 % de matière sèche. On effectue différents prélèvements dans des creusets hermétiquement clos. L'ensemble des creusets est
20 porté pendant 15 min à une température de 100°C pour réaliser la gélatinisation ou la mise en solution, et on soumet ensuite ces creusets à un traitement de cycles de gel/dégel, chacun des cycles consistant à amener et maintenir ladite préparation pendant 15 min à une
25 température de -20°C, puis à une température de 20°C et à la maintenir ensuite pendant 1 h 30 à cette température.

Une analyse calorimétrique différentielle est ensuite réalisée à chaque cycle, sur équipement PERKIN ELMER, pour la détermination de l'enthalpie de déstructuration du
30 produit qui a pu alors rétrograder.

La stabilité aux cycles de gel/dégel s'apprécie donc en premier lieu par le nombre de cycle de gel/dégel au delà duquel on peut réaliser cette mesure de la valeur

d'enthalpie requise pour déstructurer le gel d'amidon qui a alors rétrogradé.

Les polymères de glucose conformes à l'invention soumis à ces cycles répétés de gel/dégel présentent, de
5 manière surprenante et inattendue, une « faible tendance à la rétrogradation », c'est-à-dire ici une absence partielle, voire totale de rétrogradation selon le test A et en fonction de leur teneur en liaisons glucosidiques α -1,6.

10 C'est ainsi que les polymères de glucose conformes à l'invention qui présentent une teneur en liaisons glucosidiques α -1,6 comprise entre 2,5 et 5 %, ne commencent à rétrograder significativement qu'au delà du huitième cycle de gel/dégel, en présentant une faible
15 valeur d'enthalpie de rétrogradation, comme il sera exemplifié ci-après.

On les qualifie de polymères de glucose branchés présentant une « très faible tendance à la rétrogradation ».

20 Quant aux polymères de glucose conformes à l'invention qui présentent une teneur en liaisons glucosidiques α -1,6 comprise entre 5 et 10 %, aucune rétrogradation de la solution n'est constatée même après 12 cycles de gel/dégel, ce qui explique pourquoi aucune enthalpie de
25 déstructuration ne peut être établie.

Il est particulièrement surprenant que les polymères de glucose conformes à l'invention, puissent présenter une telle stabilité. En effet, les mesures effectuées avec le test A, sur les amidons waxy et les amidons waxy réticulés
30 et acétylés, (tels ceux préparés en suivant les enseignements du brevet US 2.928.828) rétrogradent entre le quatrième et le sixième cycle de gel/dégel, comme il sera montré dans l'exemple 2.

Il n'existe donc pas, à la connaissance de la société Demanderesse, de polymères de glucose qui présentent une telle stabilité.

5 Cette propriété destine tout naturellement les polymères de glucose branchés conformes à l'invention à des compositions utilisables en industrie alimentaire, qui présentent alors des stabilités élevées au stockage.

Un autre avantage de l'invention est de permettre l'obtention d'un produit fini, utilisable par exemple comme
10 liant instantané dans des produits réfrigérés ou surgelés.

la détermination de la valeur centrée du profil de distribution des masses moléculaires des polymères solubles de glucose branchés conformes à l'invention est réalisée par la mesure de la distribution des masses moléculaires
15 moyennes en poids (M_p).

Dans la pratique les valeurs de M_p ne se calculent pas, mais se mesurent par différentes techniques. On utilise par exemple une méthode de mesure adaptée aux polymères de glucose, qui repose sur la chromatographie de
20 perméation de gel sur des colonnes de chromatographie étalonnées avec des pullulans de masses moléculaires connues.

Le test C, mis au point par la société Demanderesse pour déterminer la valeur centrée du profil de distribution
25 des masses moléculaires caractéristiques des polymères solubles de glucose branchés conformes à l'invention, consiste :

- à établir le profil de distribution molaire des fractions chromatographiques desdits polymères solubles de glucose branchés,
30
- à déterminer la valeur dite « valeur centrée du profil de distribution des masses moléculaires » qui correspond à la valeur du pic moyen de

distribution des poids moléculaires de la population représentant plus de 90% des fractions chromatographiques issues de ladite chromatographie séparative de perméation de gel.

5 Les polymères de glucose branchés conformes à l'invention présentent alors une valeur M_p centrée du profil de distribution de masses moléculaires comprise entre 10^4 et 10^9 daltons.

De manière avantageuse, les polymères solubles de
10 glucose conformes à l'invention peuvent être classés en deux familles, la première famille présentant une valeur de M_p centrée du profil de distribution de masses moléculaires comprise entre 10^5 et 10^6 daltons, et la seconde famille présente une valeur de M_p centrée du profil de distribution
15 de masses moléculaires compris entre 10^7 et 10^8 daltons.

Les polymères solubles de glucose branchés conformes à l'invention présentent par ailleurs une faible teneur en sucres réducteurs.

La détermination du pouvoir réducteur des polymères
20 de glucose branchés conformes à l'invention, par toute méthode connue par ailleurs de l'homme du métier, conduit à des valeurs au plus égale à 9 %.

De manière avantageuse, les polymères de glucose branchés peuvent être classés en deux sous-familles en
25 fonction de leur teneur en sucres réducteurs.

La première sous-famille présente une teneur en sucres réducteurs au plus égale à 1 %.

La seconde sous-famille présente une teneur en sucres réducteurs comprise entre 5,5 et au plus 9 %.

30 La société Demanderesse a en outre trouvé que les polymères de glucose branchés conformes à l'invention présentent des profils rhéologiques tout à fait particuliers.

L'analyse de viscosité des polymères de glucose branchés conformes à l'invention est réalisée grâce à un test B mis au point par la société Demanderesse pour cette gamme particulière de produits.

5 Il ne s'agit pas en effet ici de produits granulaires tels qu'habituellement décrits et analysés dans l'état de la technique, mais de polymères de glucose branchés qui présentent de manière surprenante et inattendue une remarquable solubilité dans l'eau froide.

10 Le test B consiste à préparer tout d'abord le produit à analyser par précipitation à l'éthanol, séchage sous vide puis broyage au mortier, et enfin tamisage sur tamis de maille 125 μ m. Une masse comprise entre 3 et 15 g du produit sec à analyser ainsi obtenu est alors introduite,
15 avec 6,75 g de glycérol à 98 % de pureté, dans le bol d'un Rapid Visco Analyser (RVA - Newport Scientific), et l'ensemble est soigneusement homogénéisé à l'aide d'une micro-spatule.

Une quantité d'eau déminéralisée est ensuite ajoutée,
20 afin d'obtenir une masse finale de 28 g. L'ensemble est alors immédiatement agité. Le profil d'analyse temps / température et vitesse dans le RVA est alors réalisé comme suit. L'échantillon est agité à 100 rpm à une température de 25°C durant 5 s, puis à 500 rpm pendant 25 s.
25 L'agitation est alors maintenue à 160 rpm durant le reste du profil. La température initiale de 25°C est maintenue durant 10 min, puis elle est augmentée à 90°C en 8 min. Cette température de 90°C est ensuite maintenue 3 min, diminuée à 30°C en 8 min, puis maintenue à cette valeur de
30 30°C durant 5 min.

La viscosité retenue est la viscosité mesurée en centipoises (cP) en fin de profil d'analyse, à 34 min.

Les polymères de glucose branchés conformes à l'invention présentent alors une viscosité au plus égale à 5.000 cP pour 3 g sec de produit.

La société Demanderesse a également trouvé que ces valeurs de viscosité des polymères de glucose branchés conformes à l'invention sont du même ordre de grandeur que les valeurs de viscosité, déterminées en suivant le même test B, des amidons waxy fluidifiés par traitement acide.

Cependant, des analyses complémentaires de mesure de viscosité effectuées après sept jours de stockage à 4°C, ont permis de mettre en évidence, de manière surprenante et inattendue, une remarquable stabilité de la viscosité des polymères de glucose branchés, contrairement auxdits amidons waxy fluidifiés de même viscosité, comme il sera exemplifié ci-après.

Ces produits peuvent donc être par exemple avantageusement utilisés pour la fabrication de préparations alimentaires liquides instantanées, et surtout peuvent permettre d'assurer le stockage de longue durée à basse température.

Les polymères solubles de glucose branchés conformes à l'invention sont donc particulièrement bien adaptés à des compositions destinées à être utilisées dans les industries notamment du Papier-Carton, du Textile, de la Pharmacie, de la Cosmétique, et ainsi en particulier de l'Alimentaire.

Pour préparer les polymères solubles de glucose branchés conformes à l'invention, on réalise la succession des étapes suivantes qui consiste en ce que l'on :

a) soumet une suspension aqueuse d'amidon ou de dérivé d'amidon d'une matière sèche au moins égale à 1 % en poids, de préférence de 2 à 50 % en poids, à une température supérieure à 130°C, de préférence comprise entre 140 et 150°C, sous une pression de plus de 3,5

bars, de préférence comprise entre 4 à 5 bars pendant au moins 2 minutes, de préférence pendant 2 à 5 minutes,

b) traite l'amidon ainsi obtenu avec 50 à 2.000 unités d'enzyme de branchement purifiée à une température comprise entre 25 et 50°C, de préférence à une température de 30°C pendant une durée de 10 min à 24 heures,

c) recueille les polymères de glucose branchés ainsi obtenus.

L'amidon est introduit en solution aqueuse à une matière sèche au moins égale à 1 % en poids, de préférence de 2 à 50 % en poids.

Le choix d'une origine, ou d'une qualité d'amidon ou de ses dérivés particuliers, ne revêt qu'une importance relative.

La société Demanderesse a trouvé que les polymères de glucose branchés conformes à l'invention sont aisément synthétisables à partir d'amidons ou de leurs dérivés, qui présentent déjà un taux de branchement au moins égal à 1 %.

Cette suspension d'amidon ou de dérivés d'amidon est soumise ensuite à un traitement par cuisson particulier, qui consiste à la traiter à une température supérieure à 130°C, de préférence comprise entre 140 et 150°C, sous une pression de plus de 3,5 bars, de préférence comprise entre 4 à 5 bars pendant au moins 2 minutes, de préférence pendant 2 à 5 minutes. Ce traitement est réalisé avantageusement dans un cuiseur tubulaire à double enveloppe chauffé par fluide thermique, équipement qu'il est aisé à l'homme du métier de se procurer.

La deuxième étape du procédé conforme à l'invention consiste à traiter l'amidon ainsi obtenu avec de 50 à 2.000 unités d'enzyme de branchement purifiée à une température

comprise entre 25 et 50°C, de préférence à une température de 30°C pendant une durée de 10 min à 24 heures.

Les enzymes de branchement sont choisies dans le groupe constitué des enzymes de branchement du glycogène et des enzymes de branchement de l'amidon. Plus préférentiellement, on choisit l'enzyme de branchement du glycogène de *Escherichia coli*, et les enzymes de branchement de l'amidon, et plus préférentiellement encore les enzymes de branchement de l'amidon de type I et de type II du maïs, ou encore de l'amidon d'algue unicellulaire, par exemple celles de l'algue verte *Chlamydomonas reinhardtii*.

L'isolement des dites enzymes de branchement du glycogène ou de l'amidon peut être effectué par tout moyen connu en soi par l'homme du métier.

Concernant les enzymes de branchement d'algue unicellulaire, la société Demanderesse recommande cependant de mettre en oeuvre le procédé de préparation décrit dans la demande de brevet français déposée sous le n° 98/12051, dont elle est titulaire.

L'accès aux enzymes purifiées peut être réalisé à partir du mélange d'enzymes d'algue ainsi obtenu, en mettant en oeuvre directement des techniques de séparation chromatographique en elles-mêmes connues, ou par l'utilisation des techniques de l'ADN recombinant.

Il peut être en effet avantageux de préférer isoler et exprimer les gènes codant pour les enzymes de branchement de l'amidon d'algue unicellulaire dans un micro-organisme plus facilement manipulable que les algues unicellulaires.

La technique, connue en soi par l'homme du métier, consiste alors par exemple à :

- produire des anticorps polyclonaux spécifiques de chacune des enzymes de branchement de l'amidon d'algue préalablement purifiée,
- cribler, avec lesdits anticorps spécifiques, une banque d'expression d'ADN génomique de l'algue unicellulaire considérée,
- isoler les fragments d'ADN à partir des clones de ladite banque d'expression d'ADN génomique qui ont réagi avec l'un et/ou l'autre des anticorps polyclonaux spécifiques,
- introduire lesdits fragments d'ADN correspondants aux gènes codant pour les enzymes de branchement de l'amidon d'algue unicellulaire dans des bactéries permettant leur expression.

Les enzymes de branchement de l'amidon d'algue produites par ce procédé sont dites des enzymes de branchement recombinantes, puisque en provenance d'une algue unicellulaire, puis transférées génétiquement et exprimées dans un micro-organisme d'une autre espèce, en l'occurrence ici une bactérie.

Pour préparer les polymères solubles de glucose branchés conformes à l'invention, on peut donc faire agir avantageusement une enzyme de branchement de l'amidon d'algue purifiée recombinante sur une colle d'amidon de mais waxy préparé selon l'étape a) dudit procédé.

La dernière étape du procédé conforme à l'invention consiste donc à collecter les polymères de glucose branchés ainsi obtenus.

Les produits sont précipités par 3 volumes d'éthanol, purifiés et séchés sous vide pendant 24 heures, ou encore atomisés, par toute technique connue par ailleurs de l'homme du métier.

D'autres caractéristiques et avantages de l'invention apparaîtront à la lecture des exemples non limitatifs décrits ci-dessous

5 **EXEMPLE 1**

La préparation des polymères de glucose branchés s'effectue comme suit. On prépare une suspension d'amidon de maïs waxy d'une teneur en matière sèche de 2,5 % en poids. On traite ensuite cette suspension dans un cuiseur
10 tubulaire à double enveloppe chauffé par fluide thermique de laboratoire, à une température de 145°C, sous une pression de 4 bars. Le débit d'alimentation est de 40 ml/min, pour un temps de séjour dans ledit cuiseur de 3 minutes.

15 1,5 litres de cette préparation sont refroidis à température ambiante et placés dans un milieu tamponné à pH 7 par du tampon Tris HCl 0,1 M final pour un volume total de 3,750 litres. On ajoute 19 ml (d'une solution enzymatique à 1,8 mg/ml de protéines, présentant en outre
20 une activité spécifique de 1.100 U/mg, activité mesurée par la méthode de dosage à la phosphorylase A connue en soi par l'homme du métier) d'une solution d'enzymes de branchement de l'amidon recombinantes de l'algue *Chlamydomonas reinhardtii* préalablement purifiées, et on laisse agir à
25 30°C pendant 30 min pour obtenir des polymères de glucose branchés conformes à l'invention présentant une teneur en liaisons glucosidiques α -1,6 de 4,3 % (produit A), et pendant 2 heures, pour obtenir des polymères de glucose branchés, conformes à l'invention, présentant une teneur en
30 liaisons glucosidiques α -1,6 de 6 % (produit B). Chacun des produits est ensuite précipité à l'éthanol, filtré, rincé et séché sous vide pendant 24 heures.

Les valeurs respectives des M_p centrées du profil de distribution des masses moléculaires des produits A et B sont respectivement de $1,5 \cdot 10^7$ daltons et de $2,2 \cdot 10^7$ daltons. Leurs teneurs en sucres réducteurs est
5 respectivement de 0,05 % et de 0,07 %.

EXEMPLE 2

La détermination de la stabilité des polymères de glucose branchés conformes à l'invention est réalisée par
10 la mesure de l'enthalpie de déstructuration du produit rétrogradé, si produit rétrogradé il y a, par Analyse Calorimétrique Différentielle, au cours de cycles répétés de gel/dégel.

Deux polymères de glucose branchés conformes à
15 l'invention, présentant respectivement une teneur en liaisons glucosidiques α -1,6 de l'ordre de 4,3 % (produit A) et de l'ordre de 6 % (produit B) sont préparés comme indiqué dans l'exemple 1. L'analyse est également effectuée sur deux autres échantillons : de l'amidon de maïs waxy
20 (produit C) et un amidon waxy réticulé et acétylé, présentant un indice d'acétyle de 1,8 (produit D).

Comme indiqué dans le test A, on constitue une préparation aqueuse de chacun des 4 échantillons à 40 % de matière sèche placés dans un ensemble de creusets
25 hermétiquement clos, et on chauffe pendant 15 min à 100°C dans un four DSC4 de PERKIN ELMER. On réalise pour chaque creuset de 2, 4, 6, 8, 10 ou 12 cycles successifs de gel/dégel en suivant le protocole suivant : 15 min à -22°C , puis 1h30 à 20°C . Une mesure de l'enthalpie de
30 rétrogradation est effectuée sur chaque creuset en le plaçant dans le calorimètre différentiel PERKIN ELMER.

Le tableau I suivant présente les mesures d'enthalpie de rétrogradation déterminées pour chacun des 4 produits testés au cours de 12 cycles successifs de gel/dégel.

5 **Tableau I.** Détermination des enthalpies de rétrogradation au cours des 12 cycles de gel/dégel, exprimées en J/g de préparation.

PRODUITS	Cycle 2	Cycle 4	Cycle 6	Cycle 8	Cycle 12
A	0	0	0	0	0,2
B	0	0	0	0	0
C	0	0	0,4	1	2,2
D	0	0,10	0,35	0,6	1,75

10 Les polymères de glucose branchés présentent donc une remarquable stabilité, même après 12 cycles de gel/dégel. Si l'amidon waxy (produit C) et l'amidon waxy réticulé et acétylé (produit D) commencent à rétrograder à partir du 4^{ème} cycle de gel/dégel, il n'en est pas de même pour chacun
15 des polymères de glucose branchés conformes à l'invention préparés à partir dudit amidon waxy. Le procédé enzymatique mis en oeuvre pour modifier les amidons et dérivés d'amidon permet donc de leur assurer une excellente stabilité, bien supérieure en l'état aux amidons waxy stabilisés et/ou
20 réticulés.

EXEMPLE 3

La caractérisation rhéologique des polymères de glucose branchés est réalisée à l'aide d'un Rapid Visco
25 Analyser (RVA).

Les produits conformes à l'invention présentant une remarquable solubilité dans l'eau froide.

Il a donc été nécessaire de mettre au point une méthode de détermination de viscosité propre à ce type de produit.

Comme indiqué dans le test B, 4,5 g du produit sec à tester sont mélangés avec du glycérol et de l'eau pour atteindre une masse finale de 28 g.

Les produits analysés sont d'une part, les produits A, B et C décrits dans l'exemple 2 et deux autres produits E et F, correspondants à des amidons de maïs waxy fluidifiés à deux niveaux de fluidification (valeur appréciée par la mesure classique de la fluidité dans l'eau, i.e. l'indice de " water fluidity " ou WF), obtenus par traitement en conditions acides connues en soi par l'homme du métier, le produit E présentant un WF de 50, et le produit F, un WF de 65.

Le profil d'analyse temps / température et vitesse dans le RVA est alors réalisé comme suit. L'échantillon est agité à 100 rpm à une température de 25°C durant 5 s, puis à 500 rpm pendant 25 s. L'agitation est alors maintenue à 160 rpm durant le reste du profil.

La température initiale de 25 °C est maintenue durant 10 min, puis elle est augmentée à 90°C en 8 min.

Cette température de 90°C est ensuite maintenue 3 min, diminuée à 30°C en 8 min, puis maintenue à cette valeur de 30°C durant 5 min.

Le tableau II suivant présente les résultats de viscosité pour les produits A, B, C, E et F, exprimés en centipoises.

Tableau II. Détermination des viscosités en fin de profil temps/température et vitesse en RVA des produits A, B, C, E et F, exprimées en centi-Poises (CP)

PRODUITS	Viscosité à 34 min
A	1600
B	750
C	6060
E	1140
F	660

Les polymères de glucose branchés conformes à l'invention présentent encore une certaine viscosité, mais
5 remarquablement plus faible que celle du témoin amidon waxy (C).

On remarque que ces valeurs de viscosité sont du même ordre de grandeur que les amidons waxy fluidifiés.

Une étude complémentaire est réalisée par mesure de
10 la viscosité après stockage durant 7 jours à 4°C.

Cette étude permet de caractériser la stabilité des colles ainsi fabriquées dans le temps et de déterminer en quoi les polymères de glucose branchés conformes à l'invention diffèrent des amidons waxy fluidifiés.

15 On réalise le stockage des bols du RVA contenant chacun des cinq produits à 4°C.

La viscosité est ensuite à nouveau déterminée par le RVA. Le profil d'analyse temps / température et vitesse est alors caractérisé par une vitesse et une température
20 maintenues respectivement à 160 et 30°C pendant 20 min.

La viscosité retenue est la viscosité moyenne mesurée en cP entre 15 et 20 min.

Le tableau III suivant présente les résultats de viscosité obtenus après 7 jours de stockage à 4°C des
25 produits A, B, C, E et F.

Tableau III. Détermination des viscosités des produits après stockage pendant 7 jours à 4°C, exprimées en cP.

PRODUITS	Viscosité après 7 jours à 4 °C
A	2500
B	850
C	8650
E	Gel blanc, dur, ferme*
F	Gel blanc, dur, ferme*

5 * : viscosité non mesurable.

Les résultats montrent clairement que les polymères de glucose branchés conformes à l'invention présentent une viscosité remarquablement stable même après un stockage à
10 4°C. Cette faible viscosité peut donc être mise à profit avantageusement pour des préparations alimentaires qui nécessitent que l'ingrédient amylacé qui les composent soit de faible viscosité (telles que les préparations liquides instantanées) et qui demandent à être stockées pendant une
15 longue période de temps à basses températures.

EXEMPLE 4

On prépare des polymères solubles de glucose branchés conformes à l'invention, en faisant agir une enzyme de
20 branchement du glycogène isolée de *E. coli* sur divers solutions d'amidons et dérivés d'amidon, pendant 21 heures de réaction à 30°C et conformément aux autres conditions décrites dans l'exemple 1.

25 Il s'agit en l'occurrence ici de suspensions d'amidon standard de maïs (G), d'amidon de maïs waxy (I), d'amidon

riche en amylose commercialisé par la société Demanderesse sous le nom d'EURLON[®] 7 (K) et d'une maltodextrine commercialisée par la société Demanderesse sous le nom de GLUCIDEX[®] 2 (M).

5 Le tableau IV suivant présente les résultats obtenus en terme de teneurs en liaisons glucosidiques α -1,6, de valeur des Mp centrées du profil de distribution des poids moléculaires, de teneur en sucres réducteurs et de
10 comportement de rétrogradation après 10 cycles de gel/dégel.

Tableau IV: Détermination des caractéristiques physico-chimiques et fonctionnelles des polymères solubles de glucose conformes à l'invention H, J, L et N obtenus par
15 l'action de l'enzyme de branchement du glycogène de *E. coli* respectivement sur les substrats G, I, K et M à une matière sèche donnée.

	G 10% MS	H	I 1% MS	J	K 5 % MS	L	M 20% MS	N
Teneur en liaisons glucosidiques α -1,6 (%)	3	3,4	4,4	5,6	1,9	3,3	6,1	7,1
Valeur de Mp centrée (daltons)	5.10^7	$5.8.10^5$	1.10^8	$2,2.10^5$	$8.5.10^6$	5.10^5	$3.3.10^5$	$1,4.10^5$
Teneur en sucres réducteurs	0,13	0,16	< 0,5	< 0,05	0,5	0,5	3	3,5
Enthalpies de rétrogradation (J/g)	2	1	1,5	0	3	0,4	2,3	0

20 Les polymères solubles de glucoses branchés conformes à l'invention présentent donc une remarquable tenue au gel/dégel et une distribution des poids moléculaires centrés sur un fin intervalle de valeurs compris entre 1,4

et $5,8 \cdot 10^5$ daltons, alors que les substrats de départ présentent au contraire une forte tendance à la rétrogradation et des profils de distribution des poids moléculaires étalés de 10^3 à 10^8 daltons.

REVENDICATIONS

1. Polymères solubles de glucose branchés ne contenant substantiellement pas de liaisons β glucosidiques, caractérisés par le fait qu'ils présentent :

- entre 2,5 et 10 % de liaisons glucosidiques α -1,6,
- une tendance très faible ou nulle à la rétrogradation en solution aqueuse, déterminée selon un test A,
- un Mp déterminé selon un test C à une valeur centrée du profil de distribution des masses moléculaires comprise entre 10^4 et 10^8 daltons,
- une teneur en sucres réducteurs au plus égale à 9 %.

2. Polymères solubles de glucose branchés selon la revendication 1, caractérisés par le fait qu'ils présentent une viscosité déterminée selon un test B au plus égale à 5.000 cP.

3. Polymères de glucose branchés selon l'une ou l'autre des revendications 1 et 2, caractérisés par le fait qu'ils présentent :

- entre 2,5 et 5 % de liaisons glucosidiques α -1,6,
- un Mp déterminé selon un test C à une valeur centrée du profil de distribution des masses moléculaires comprise entre 10^5 et 10^6 daltons,
- une teneur en sucres réducteurs au plus égale à 1 %.

4. Polymères de glucose branchés selon l'une ou l'autre des revendications 1 et 2, caractérisés par le fait qu'ils présentent :

- entre 5 et 10 % de liaisons glucosidiques α -1,6,
- un Mp déterminé selon un test C à une valeur centrée du profil de distribution des masses moléculaires comprise entre 10^7 et 10^8 daltons,

- une teneur en sucres réducteurs comprise entre 5,5 au plus 9 %.

5. Procédé de fabrication de polymères de glucose branchés ne contenant substantiellement pas de liaisons β glucosidiques conformes à l'une quelconque des revendications 1 à 4, caractérisé par le fait que l'on :

a) soumet une suspension aqueuse d'amidon ou de dérivé d'amidon d'une matière sèche au moins égale 1 % en poids, de préférence de 1 à 50 % en poids, à une température supérieure à 130°C, de préférence comprise entre 140 et 150°C, sous une pression de plus de 3,5 bars, de préférence comprise entre 4 à 5 bars pendant au moins 2 min, de préférence pendant 2 à 5 min,

b) traite l'amidon ou le dérivé amidon ainsi obtenu avec 50 à 2.000 unités d'enzyme de branchement purifiée à une température comprise entre 25 et 50°C, de préférence à une température de 30°C, pendant une durée de 10 min à 24h,

c) recueille les polymères de glucose branchés ainsi obtenus.

6. Procédé de fabrication de polymères solubles de glucose branchés selon la revendication 5, caractérisé par le fait que l'enzyme de branchement est choisie dans le groupe constitué par les enzymes de branchement du glycogène, les enzymes de branchement de l'amidon et les mélanges quelconques de ces enzymes.

7. Procédé de fabrication de polymères solubles de glucose branchés selon l'une ou l'autre des revendications 5 et 6, caractérisé par le fait que l'enzyme de branchement est extraite d'organismes et/ou de micro-organismes choisis dans le groupe constitué par les plantes supérieures, les

levures, les bactéries et les algues unicellulaires, et est de préférence extraite d'algues unicellulaires.

8. Procédé de fabrication de polymères solubles de glucose branchés selon la revendication 7, caractérisé par le fait que l'enzyme de branchement extraite d'algues est obtenue par isolement à partir d'un organisme génétiquement modifié capable d'exprimer la dite enzyme.

9. Compositions destinées à être utilisées dans les industries notamment du Papier-Carton, du Textile, de la Pharmacie, de la Cosmétique, et en particulier de l'Alimentaire, caractérisées en ce qu'elles renferment les polymères de glucose branchés selon l'une quelconque des revendications 1 à 4 ou susceptibles d'être obtenus selon l'une des revendications 5 à 8.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No.

P R 00/01109

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

IPC 7 C08B30/12 C12P19/16

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

IPC 7 C08B C12P

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used)

EPO-Internal, CHEM ABS Data, WPI Data, PAJ

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	FR 2 499 588 A (KABUSHIKI KAISHA. HAYASHIBARA SEIBUTSU KAGAKU KENKYUJO) 13 February 1982 (1982-02-13) page 2, line 20 -page 3, line 13	1-7,9
A	CHEMICAL ABSTRACTS, vol. 131, no. 11, 13 September 1999 (1999-09-13) Columbus, Ohio, US; abstract no. 143650, KURIKI TAKASHI ET AL.: "Application of cluster dextrin as food ingredient." XP002127630 abstract & NIPPON SHOKUHIN SHINSOZAI KENKYUKAISHI, vol. 1, no. 1, 1998, pages 15-22, jp	

☐ Further documents are listed in the continuation of box C.

Patent family members are listed in annex.

* Special categories of cited documents :

"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

"E" earlier document but published on or after the international filing date

"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art

"Z" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

2 August 2000

Date of mailing of the international search report

09/08/2000

Name and mailing address of the ISA

European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2
NL - 2280 HV Rijswijk
Tel. (+31-70) 340-2040. Tx. 31 651 epo nl,
Fax: (+31-70) 340-3016

Authorized officer

Mazet, J-F

Information for family members

International Association No

PCT/FR. 01109

Form PCT/ISA/210 (patent family annex) (July 1992)

BEST AVAILABLE COPY

RAPPORT DE RECHERCHE INTERNATIONALE

Demande internationale No

PC 00/01109

A. CLASSEMENT DE L'OBJET DE LA DEMANDE
CIB 7 C08B30/12 C12P19/16

Selon la classification internationale des brevets (CIB) ou à la fois selon la classification nationale et la CIB

B. DOMAINES SUR LESQUELS LA RECHERCHE A PORTE

Documentation minimale consultée (système de classification suivi des symboles de classement)

CIB 7 C08B C12P

Documentation consultée autre que la documentation minimale dans la mesure où ces documents relèvent des domaines sur lesquels a porté la recherche

Base de données électronique consultée au cours de la recherche internationale (nom de la base de données, et si réalisable, termes de recherche utilisés)

EPO-Internal, CHEM ABS Data, WPI Data, PAJ

C. DOCUMENTS CONSIDERES COMME PERTINENTS

Catégorie *	Identification des documents cités, avec, le cas échéant, l'indication des passages pertinents	no. des revendications visées
A	FR 2 499 588 A (KABUSHIKI KAISHA. HAYASHIBARA SEIBUTSU KAGAKU KENKYUJO) 13 février 1982 (1982-02-13) page 2, ligne 20 -page 3, ligne 13	1-7,9
A	CHEMICAL ABSTRACTS, vol. 131, no. 11, 13 septembre 1999 (1999-09-13) Columbus, Ohio, US; abstract no. 143650, KURIKI TAKASHI ET AL.: "Application of cluster dextrin as food ingredient." XP002127630 abrégé & NIPPON SHOKUHIN SHINSOZAI KENKYUKAISHI, vol. 1, no. 1, 1998, pages 15-22, jp	

☐ Voir la suite du cadre C pour la fin de la liste des documents☒ Les documents de familles de brevets sont indiqués en annexe

* Catégories spéciales de documents cités:

"A" document définissant l'état général de la technique, non considéré comme particulièrement pertinent

"E" document antérieur, mais publié à la date de dépôt international ou après cette date

"L" document pouvant jeter un doute sur une revendication de priorité ou cité pour déterminer la date de publication d'une autre citation ou pour une raison spéciale (telle qu'indiquée)

"O" document se référant à une divulgation orale, à un usage, à une exposition ou tous autres moyens

"P" document publié avant la date de dépôt international, mais postérieurement à la date de priorité revendiquée

"T" document ultérieur publié après la date de dépôt international ou la date de priorité et n'appartenant pas à l'état de la technique pertinent, mais cité pour comprendre le principe ou la théorie constituant la base de l'invention

"X" document particulièrement pertinent; l'invention revendiquée ne peut être considérée comme nouvelle ou comme impliquant une activité inventive par rapport au document considéré isolément

"Y" document particulièrement pertinent; l'invention revendiquée ne peut être considérée comme impliquant une activité inventive lorsque le document est associé à un ou plusieurs autres documents de même nature, cette combinaison étant évidente pour une personne du métier

"Z" document qui fait partie de la même famille de brevets

Date à laquelle la recherche internationale a été effectivement achevée

2 août 2000

Date d'expédition du présent rapport de recherche internationale

09/08/2000

Nom et adresse postale de l'administration chargée de la recherche internationale
Office Européen des Brevets, P.B. 5818 Patentiaan 2
NL - 2280 HV Rijswijk
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,
Fax: (+31-70) 340-3016

Fonctionnaire autorisé

Mazet, J-F

BEST AVAILABLE COPY

Renseignements relatifs aux membres de familles de brevets

Demande Internationale No

PCT/FR 81/01109

Document brevet cité au rapport de recherche	Date de publication	Membre(s) de la famille de brevet(s)	Date de publication
FR 2499588 A	13-08-1982	JP 1446808 C	30-06-1988
		JP 57138387 A	26-08-1982
		JP 62053148 B	09-11-1987
		JP 1191275 C	29-02-1984
		JP 57132850 A	17-08-1982
		JP 58022182 B	07-05-1983
		GB 2095681 A,B	06-10-1982
		US 4454161 A	12-06-1984

THIS PAGE BLANK (USPTO)